

采后亚精胺处理对‘早酥梨’黑斑病的控制及贮藏品质的影响

胡培芳,李永才*,马岳岳,毕阳,张婷婷,张彦东

(甘肃农业大学食品科学与工程学院,兰州 730070)

摘要:【目的】探讨采后外源亚精胺处理对‘早酥梨’黑斑病的控制效果、诱导抗病机制及其对贮藏品质的影响。【方法】以‘早酥梨’为材料,研究外源亚精胺浸泡处理对常温贮藏条件下梨果黑斑病的控制效果;分析测定外源亚精胺处理后果实组织活性氧及其产生或清除相关酶活性和贮藏期间生理和品质指标的变化。【结果】亚精胺能有效地抑制‘早酥梨’黑斑病的扩展,其控制效果存在浓度依赖性,其中1 mmol·L⁻¹亚精胺在5 d时抑制效果最佳,抑制率为55.1%。进一步研究表明,亚精胺处理促进贮藏后期果实组织超氧阴离子(O₂⁻)和过氧化氢(H₂O₂)的积累及NADPH氧化酶(NOX)活性的下降,同时提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶的活性。此外,亚精胺处理明显降低果实呼吸强度和乙烯的释放量,并延迟呼吸和乙烯高峰,可有效保持果实的硬度。【结论】适宜浓度的外源亚精胺采后处理可通过调节‘早酥梨’果实活性氧代谢来增强果实的抗病性,进而有效保持梨果的贮藏品质。

关键词:‘早酥梨’;亚精胺;黑斑病;活性氧代谢;贮藏品质

中图分类号:S661.2

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2018)02-0212-10

Effect of postharvest polyamines treatment on black spot disease control and storage quality of ‘Zaosu’ pear fruit

HU Peifang, LI Yongcai*, MA Yueyue, BI Yang, ZHANG Tingting, ZHANG Yandong

(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: 【Objective】 ‘Zaosu’ pear (*Pyrus bretschneideri*) is one of the important early cultivars grown in the north of China. The fruit is popular due to its green peel, good taste and crispy fleshy texture. However, it is often harvested in the summer and susceptible to postharvest losses due to fungal diseases and quality deterioration characterized by peel yellowing and the decrease in soluble solids content. *Alternaria rot*, caused by *Alternaria alternata*, is one of the most important diseases of pear fruit and, in general, synthetic chemical fungicides are the primary means to control postharvest diseases. However, public concern over food safety has prompted the investigation of methods of disease control that are less harmful to human health and the environment. It is of the utmost importance to develop alternatives to the use of chemical fungicides. Polyamines are low molecular weight organic polycations, positively charged with physiological pH, that are present in a wide range of living organisms. In plants, polyamines are involved in different physiological processes, such as growth, development and response to abiotic and biotic stresses. Therefore, the effects of different concentrations of spermidine on black spot control and storage quality of ‘Zaosu’ pears were evaluated. 【Methods】 A uniform size of ‘Zaosu’ pear fruits, free of physical injuries or apparent decay, were commercially harvested and chosen as the experimental materials. The fruits

收稿日期:2017-07-19 接受日期:2017-10-28

基金项目:国家自然科学基金(31460534);甘肃农业大学青年导师基金(GAU-QNDS-201208)

作者简介:胡培芳,硕士,主要从事采后生物技术研究。Tel: 13659326879, E-mail: hupeifang0205@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 0931-7631694, E-mail: lyc@gsau.edu.cn

were washed in a 2% (φ) sodium hypochlorite solution for 2 min, rinsed with tap water and air-dried prior to use. The pear fruit was dipped with 0, 0.5, 1, 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ spermidine for 15 min, and then dried in air for 2 h at room temperature. The control effect of spermidine treatment on the black spots of pear fruit were evaluated and the changes in the content of the reactive oxygen species (ROS), activities of ROS producing and scavenging related enzymes and physiological and quality indexes of pear fruits during storage were also measured. All the test data were calculated using a Microsoft Excel 2010 standard deviation and plotted. SPSS 19.0 software was used to analyze the variance of the data, using Duncan's multiple difference significant analysis. 【Results】Postharvest application of spermidine significantly reduced the lesion diameter of the black spots in pear fruit caused by *A. alternata* compared to the control treatment ($P < 0.05$), except for the group treated with spermidine at 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the inhibitory rate of the fruit treated with spermidine at 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ increased to 55.1% on the fifth day. The rate of O_2^- production in pear fruit tissue gradually decreased during storage, while the content of H_2O_2 gradually increased with the spermidine treatment promoted by the production of O_2^- and H_2O_2 , and delayed by the decrease of NADPH oxidase (NOX) activities during the later storage. Spermidine treatment also enhanced the activities of the antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) of pear fruit. Furthermore, spermidine treatment reduced the respiration rate and ethylene release of fruit and significantly delayed the respiration and ethylene peak, decreased the weight loss and effectively reduced the decrease of and firmness and soluble solids content of pear fruit during storage. 【Conclusion】The exogenous spermidine at 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ could effectively inhibit the development of black spots and improve disease resistance and storage quality of the ‘Zaosu’ pear fruit. It is suggested that exogenous spermidine treatment might enhance the fruit resistance through regulating the reactive oxygen metabolism in pear fruit tissue, and thus effectively maintain fruit storage quality.

Key words: ‘Zaosu’ pear; Spermidine; Black spot; Reactive oxygen metabolism; Storage quality

‘早酥梨’(*Pyrus bretschneideri* ‘Zaosu’)是中国西北地区的早熟梨品种,果皮翠绿,肉质细腻,质地脆嫩,深受广大消费者青睐^[1]。甘肃作为‘早酥梨’重要产地之一^[2],其种植面积和产量占当地梨果的30%左右,‘早酥梨’是果农重要的经济来源。然而‘早酥梨’每年七八月份采收,正值高温季节,且采收期相对集中,致使采后果实品质劣变和腐烂严重,制约了‘早酥梨’产业的健康发展。其中由互隔交链孢(*Alternaria alternata*)引起的黑斑病是‘早酥梨’采后主要病害之一^[3]。目前生产上主要采用化学合成杀菌剂进行防治,虽然效果较好,但化学杀菌剂的长期应用会产生一系列环境和健康问题,因此开发并利用更加安全、有效的防治方法已迫在眉睫。

多胺(polyamine, PA)是动植物体内具有较高生物活性的一类次生代谢物质,主要包括腐胺(Put)、亚精胺(Spd)和精胺(Spm)^[4]。研究表明,多胺作为植物的生长调节剂对植物生长、发育、成熟衰老及环境胁迫响应等均具有重要的调节作用^[5-7]。其中具

有三胺结构的亚精胺可通过调节植物内源多胺的积累,激活抗氧化系统,进而减轻盐胁迫对白刺^[8]、辣椒^[9]和拟南芥幼苗^[10]及低温胁迫对番茄幼苗的伤害^[11]。采后亚精胺处理还可有效维持杏^[12]、桃^[13]和大枣^[14]贮藏期间的硬度,抑制杏、大枣、葡萄^[15]和‘鸭梨’^[16]的采后呼吸强度,延缓果蔬衰老速率,更好地保持果蔬的贮藏品质。近年来研究还发现,亚精胺处理能有效降低甜瓜白粉病^[17]、黄瓜灰霉病^[18]及霜霉病^[19]和冰糖橙植株溃疡病^[20]的病情指数,主要因其能有效诱导植物体内 H_2O_2 含量的增加、防御酶活性的提高、抗氧化物质的积累及抗性相关基因和防御基因的上调^[21-23]。目前有关亚精胺诱导产生抗病性机制的研究多集中在植株上,且其作用机制具有物种、病原物、寄主依赖性,在果蔬采后病害控制中的作用鲜见报道。因此笔者以‘早酥梨’为试材,研究了采后亚精胺处理对果实抗病性和贮藏品质的影响,初步探讨了其作用机制,以期亚精胺在采后果蔬防腐保鲜上的应用提供理论依据和技术支撑。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料为‘早酥梨’(*Pyrus bretschneideri* ‘Zaosu’),于2016年10月上旬取自甘肃省条山农场,挑选大小一致、无机械损伤、无病虫害的果实,纸箱包装后运达实验室,冷库低温贮藏待用。链格孢(*Alternaria alternata*)分离于贮藏中自然发病的果实,纯化后PDA培养基保存待用。亚精胺(Spd)分析纯,购于上海源叶生物科技有限公司。 H_2O_2 和SOD试剂盒,购于南京建成生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 培养基制作 马铃薯葡萄糖培养基(PDA)制作参照方中达^[24]的方法。

1.2.2 病原菌分离、纯化 参照李永才^[25]的方法并略作修改。采集有黑斑病的‘早酥梨’果实,用75%(φ)乙醇进行果实表面消毒,再用无菌水冲洗后切取病健交界处的组织,在无菌操作条件下移至马铃薯葡萄糖(PDA)培养基上,然后置于28℃保温培养,待其长出分生孢子之后再进行分离、纯化,并通过回接试验确定其致病性。分离纯化的病原物在马铃薯葡萄糖(PDA)培养基上保存备用。

1.2.3 孢子悬浮液的配制 参照高春平等^[26]的方法,无菌操作条件下在培养7 d的*A. alternata*培养皿中倒入少量无菌水,并加入少量0.01%(ω) Tween-80,用已提前高温高压灭过菌的涂布器轻刮,将所得溶液通过4层纱布过滤到三角瓶中,用无菌水稀释,在混合器上振荡15 s,用血球计数板计数,配制成每mL 1×10^6 个孢子的悬浮液。

1.2.4 样品处理 选择大小、果色均匀一致、无伤病、未经处理的梨果实在2%(ω)次氯酸钠溶液中浸泡2 min,清水冲洗后,分别用0.5、1、2 mmol·L⁻¹亚精胺溶液浸泡15 min,以蒸馏水浸泡处理作对照,取出后在室温下晾干,用市售PE保鲜袋(25 cm×40 cm,厚度0.02 mm)包装,25℃下贮藏。

1.2.5 亚精胺处理对‘早酥梨’损伤接种后病斑直径的影响 损伤接种参照MoscOSO-Ramirez等^[27]的方法并修改。果实采收后,选取大小均匀、无病虫害、机械损伤的果实在2%(ω)次氯酸钠溶液中浸泡2 min,分别用0、0.5、1、2 mmol·L⁻¹亚精胺浸泡果实15 min,自然晾干放置24 h。用75%(φ)乙醇擦拭赤道部位,用已灭菌的铁钉(直径3 mm)均匀打孔3个

(深3 mm),晾干后用移液枪吸取20 μ L孢子悬浮液,接入孔内,室温下晾干后,装入保鲜袋中,在室温(25±2℃,RH 45%~55%)下贮藏,接种后每隔1 d观察并测定果实表面的病斑直径。每个处理用果实9个,3次重复。

1.2.6 外源亚精胺处理对‘早酥梨’采后贮藏期间活性氧代谢的影响 取样参照Zhang等^[28]的方法并作修改。梨果经上述筛选的1 mmol·L⁻¹亚精胺溶液浸泡15 min,以水浸泡处理作为对照,分别在室温贮藏0、4、8、12、16、20 d取果实赤道部位皮下3~5 mm处果肉组织,铝箔纸包裹,液氮速冻后在-80℃超低温冰箱中保存待用。每个处理每个时间点用果实9个。

O_2^- 的测定参照Ren等^[29]的方法。称取3 g组织样品,然后加入5 mL 50 mmol·L⁻¹内含1 mmol·L⁻¹ EDTA、4%(ω ,后同) PVP等药物的磷酸缓冲液(pH=7.8)后冰浴研磨成匀浆,12 000 r·min⁻¹(4℃)条件下离心15 min后收集上清液备用。反应体系为1 mL的上清液、1 mL 50 mmol·L⁻¹的磷酸缓冲液和1 mL 1 mmol·L⁻¹的盐酸羟胺溶液;将上述溶液充分混匀后于25℃水浴1 h。显色反应体系:混合液、1 mL 17 mmol·L⁻¹的对氨基苯磺酸溶液、1 mL 7 mmol·L⁻¹的 α -萘胺溶液;再次混匀后于25℃水浴20 min,之后在530 nm处测定吸光度。

H_2O_2 含量使用过氧化氢(H_2O_2)测试盒测定,按说明书进行,根据 H_2O_2 可与钼酸作用生成一种络合物,在405 nm处测定其生成量,计算 H_2O_2 含量^[30]。

NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)活性的测定参照Bao等^[31]的方法。称取3 g组织样品,加入研磨提取溶液(5 mL经预冷的提取液,内含25 mmol·L⁻¹ pH=7.8的Mes-Tris缓冲液、0.25 mol·L⁻¹蔗糖溶液、3 mmol·L⁻¹ EDTA、5 mmol·L⁻¹ DTT、1 mmol·L⁻¹ PMSF、2% PVP)冰浴研磨成匀浆,9 000 r·min⁻¹(4℃)离心15 min后收集上清液备用。取1.5 mL酶液,18 000 r·min⁻¹(4℃)条件下离心40 min,收集沉淀再用1 mL内含5 mmol·L⁻¹ Mes-Tris缓冲液、0.2 mol·L⁻¹蔗糖、5 mmol·L⁻¹ KCl、5 mmol·L⁻¹ DTT和1 mmol·L⁻¹ PMSF的悬浮液进行稀释。反应体系为2 mL 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl缓冲液、0.5 mmol·L⁻¹ XTT、100 μ mol·L⁻¹ NADPH以及200 μ L的细胞膜微膜囊液,充分混合后在470 nm处测定吸光度,记录连续2 min(每隔15 s)内反应体系的吸光度。

超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)活性使用总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒测定,称取3 g组织样品,加入5 mL磷酸缓冲液研磨成匀浆,离心后收集上清液根据说明书进行测定^[30]。

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性的测定参照Terefe等^[32]方法并改进。取3 g冷冻组织样品,加入5 mL 0.1 mol·L⁻¹的pH=5.5乙酸-乙酸钠缓冲液[含1 mmol·L⁻¹ PEG、4% PVPP和1% Triton X-100]冰浴研磨制成匀浆,再将匀浆离心(4 ℃, 12 000 r·min⁻¹, 20 min),收集上清液保存备用。反应体系由3 mL的25 mmol·L⁻¹愈创木酚溶液、0.5 mL的粗酶液和0.5 mol·L⁻¹ H₂O₂溶液200 μL构成。分别加入后迅速混合,记录反应体系在波长470 nm处的吸光度,观察2 min内吸光度的变化并每隔30 s记录1次吸光度。

过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的测定参照Fan等^[33]的方法测定。取3 g冷冻组织样品,加入5 mL经预冷的0.1 mol·L⁻¹磷酸钠缓冲液(内含5% PVP和2 mmol·L⁻¹ DTT)冰浴研磨成匀浆后于12 000 r·min⁻¹(4 ℃)离心30 min后收集上清液备用。反应体系包括2.9 mL 12 mmol·L⁻¹ H₂O₂溶液和100 μL粗酶提取液,反应启动后每隔30 s连续记录2 min内反应体系在波长240 nm处的吸光度。

抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)参照Bao等^[34]的方法。取冷冻样品3 g,然后加5 mL经预冷的pH=7.5、0.1 mol·L⁻¹磷酸钾缓冲液(0.1 mmol·L⁻¹ EDTA溶液、4%的PVP、1 mmol·L⁻¹抗坏血酸溶液),在冰浴条件下研磨成匀浆,再将匀浆离心(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃, 30 min),收集上清液备用。反应体系为2.6 mL 0.05 mol·L⁻¹的缓冲液(0.5 mmol·L⁻¹抗坏血酸, pH=7.5)、0.3 mL酶提取液和0.3 mL 2 mmol·L⁻¹的H₂O₂启动液;迅速混匀后在波长290 nm处测定,每隔30 s连续记录2 min内反应体系的吸光度。

上述各项测定均做3次重复。

1.2.7 生理指标的测定 采用称量法测定果实的失重率,每个处理用果实9个,3次重复。

呼吸强度的测定参照高春丽等^[26]的方法,采用果蔬呼吸仪进行测定。气体流速500 mL·min⁻¹。每个处理用果实9个,3次重复。

果实乙烯释放量的测定:随机取3个果实称重后密封在一个配备有橡胶管和橡胶塞、可以进行气体取样的广口瓶中。密封2 h,然后抽取0.2 mL混合

气体注入气相色谱仪测定乙烯释放量。排水法测量广口瓶剩余空间体积,3次重复。

乙烯释放量分析条件:DM-5色谱柱,汽化室温度120 ℃,柱温60 ℃,氢气压力0.7 kg·cm⁻²,空气压力0.7 kg·cm⁻²,氮气压力1.0 kg·cm⁻²,氢火焰离子化检测器检测,检测室温度150 ℃,单位为μL·kg⁻¹·h⁻¹。

1.2.8 品质指标的测定 采用果蔬硬度计测定果实的硬度,在果实赤道部位组织去皮后均匀选3个点测定,每个处理用果实9个,3次重复。

采用糖度计测定果实的可溶性固形物含量(TSS),在果实最大直径处均匀选3个点测定,每个处理用果实9个,3次重复。

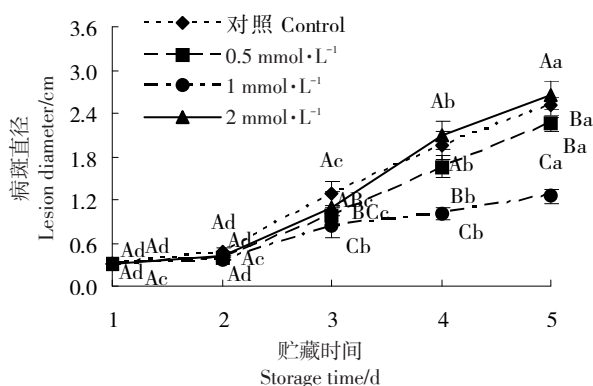
1.3 数据处理

所有试验数据采用Microsoft Excel 2010计算标准偏差并作图,用SPSS 19.0软件对得到的数据进行方差分析,采用Duncan's多重比较进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 采后外源亚精胺处理对‘早酥梨’黑斑病的控制效果

不同浓度外源亚精胺处理梨果后损伤接种*A. alternata*,随着贮藏时间的延长,病斑直径逐渐增大(图1)。其中1 mmol·L⁻¹亚精胺处理显著抑制了病斑的扩展($P < 0.05$),且在5 d时其病斑直径仅为对照的55.1%,而高浓度(2 mmol·L⁻¹)亚精胺处理反而



不同小写字母表示不同贮藏时间间差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different small letters indicate significant difference among different storage time at $P < 0.05$, different capital letters indicate significant difference among different treatments at $P < 0.05$. The same below.

图1 外源亚精胺处理‘早酥梨’黑斑病的控制效果
Fig. 1 Preventive effects of exogenous spermidine treatment on black spot of pear fruit

促进了病斑的扩展。因此,1 mmol·L⁻¹的亚精胺处理可显著诱导梨果的抗病性,从而抑制病斑的扩展。

2.2 外源亚精胺采后处理对梨果组织活性氧代谢的影响

2.2.1 对O₂⁻产生速率及H₂O₂含量的影响 在贮藏期间,梨果O₂⁻产生速率总体呈现下降-升高-下降的趋势(图2-A),前4 d处理和对照的O₂⁻产生速率均下降,随后对照在8 d时达到峰值后迅速下降,而外源亚精胺处理组O₂⁻产生速率在12 d时达到峰值后保持较高水平,并且在12 d时较对照高19%。

梨果组织中H₂O₂含量在贮藏期间整体呈现上升趋势(图2-B),亚精胺处理组H₂O₂含量均高于对照。其中12 d时,处理组果实中H₂O₂含量比同期对照高54%。

2.2.2 对NOX活性的影响 随着贮藏时间的延长,梨果组织NOX酶活性整体呈现先上升后下降的趋

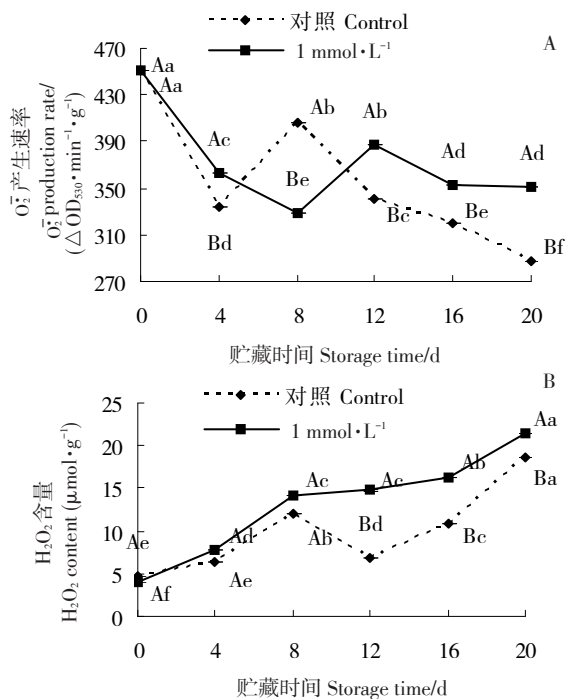


图2 外源亚精胺对梨果实O₂⁻产生速率和H₂O₂含量的影响

Fig. 2 Effect of exogenous spermidine on O₂⁻ production rate and H₂O₂ content in pear fruit

势(图3),其中亚精胺处理在4 d和12 d时分别出现小高峰,对照仅在4 d时达到峰值,随后迅速下降。在贮藏后期,处理组NOX活性明显高于对照组,其中在16 d时处理比同期对照高8%。

2.2.3 对SOD、CAT、POD活性的影响 外源亚精胺对梨果实SOD、CAT、POD的影响如图4所示。贮藏

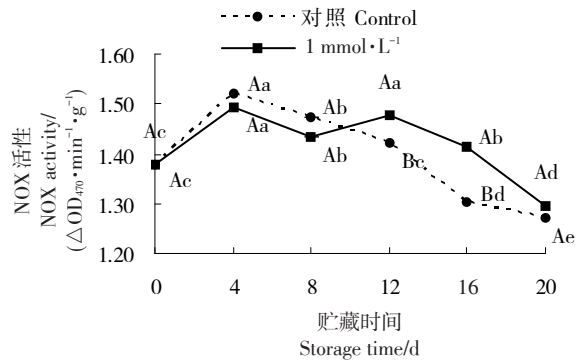


图3 外源亚精胺对梨果实中NOX活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous spermidine on the NOX activity in pear fruit

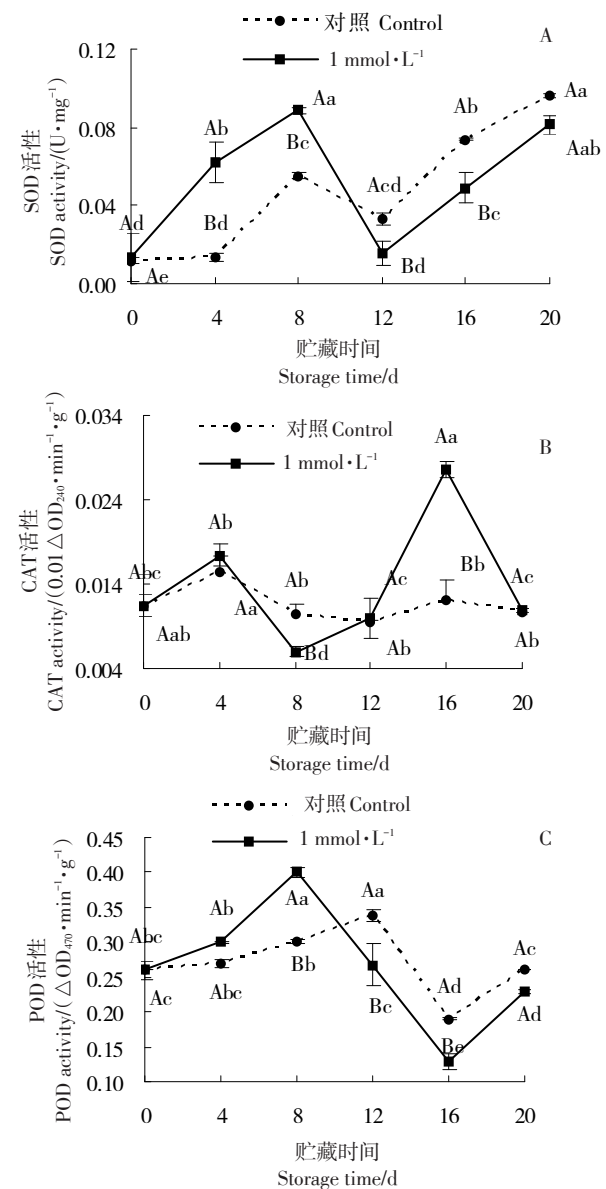


图4 外源亚精胺对梨果实中SOD、CAT和POD活性的影响

Fig. 4 Effect of exogenous spermidine on the SOD, CAT and POD activities in pear fruit

前期,外源亚精胺处理明显提高了梨果组织的SOD活性,并在8 d时达到峰值,较对照增加38%。在贮藏8~12 d期间,处理组的SOD活性较对照急剧下降至低峰而随后二者持续上升并保持较高水平,但在此期间处理组SOD活性一直低于对照。

在整个贮藏期,梨果组织的CAT活性呈现双峰变化趋势(图4-B),分别在8 d和16 d时达到峰值。前期二者并无明显差异,但在后期处理组明显高于对照,且在16 d时较对照提高了57%。

随着贮藏时间的延长,梨果实中POD活性呈升高-降低-升高的趋势(图4-C),其中处理和对照分别在8 d和12 d时达到峰值,可知外源亚精胺处理使果肉组织中POD活性峰值提前。前期处理组明显高于对照,且在8 d时较对照增加30%,但在后期处理组POD活性低于对照。

2.2.4 对APX活性的影响 由图5所示,外源亚精胺处理能明显提高果肉组织中APX酶活性,处理组呈现升高-下降-升高的整体趋势。在整个贮藏期间,处理组的APX活性均明显高于对照,且在4 d时达到峰值,与同期对照相比提高了60%。前期对照组的APX活性并无明显变化,但后期与处理组均逐渐上升,并趋于平缓。

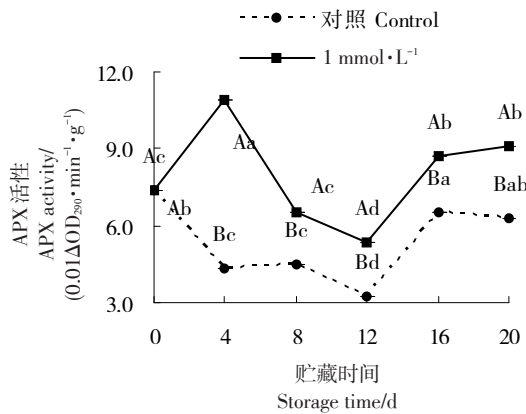


图5 外源亚精胺对梨果实中APX的影响
Fig. 5 Effect of exogenous spermidine on the APX activities in pear fruit

2.3 采后外源亚精胺处理对梨果贮藏品质及生理特性的影响

2.3.1 采后亚精胺处理对梨果失重率的影响 梨果采后失水率随贮藏时间的延长逐渐升高。由图6可知,除2 mmol·L⁻¹外,外源亚精胺处理的梨果失重率均低于对照。贮藏5 d时,0.5、1 mmol·L⁻¹亚精胺失重率较低,比对照分别降低了13%和37%。

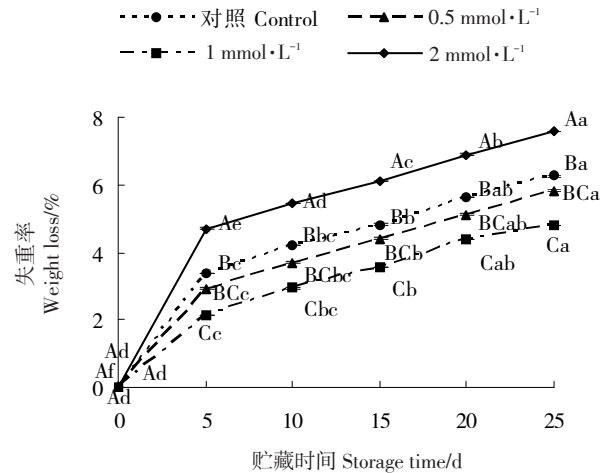


图6 外源亚精胺处理对梨果失重率的影响
Fig. 6 Effect of exogenous spermidine treatment on the weight loss in pear fruit

2.3.2 采后外源亚精胺处理对梨果贮藏期间呼吸强度及乙烯释放量的影响 亚精胺处理有效抑制了梨果的呼吸强度和乙烯释放量。如图7所示,梨果的呼吸强度随着贮藏时间的延长呈现先上升后下降的趋势。总体来看,3个处理组的呼吸强度始终低于对照,对照和处理分别在10 d和20 d时达到呼吸高

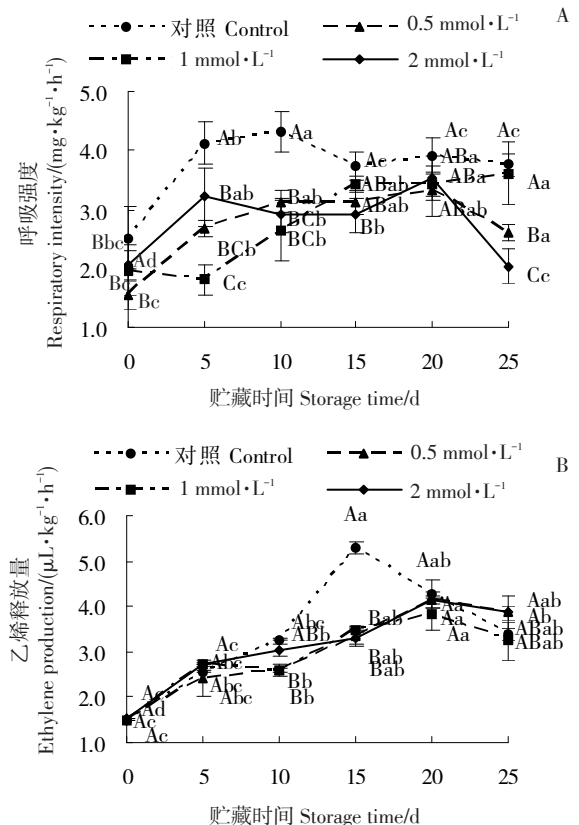


图7 外源亚精胺处理对呼吸强度和乙烯释放量的影响
Fig. 7 Effect of exogenous spermidine treatment on the respiratory intensity and ethylene production in pear fruit

峰。其中在10 d时亚精胺各处理的梨果呼吸强度较对照组均降低30%左右。乙烯释放量的变化趋势与呼吸强度基本一致,对照和处理分别在15 d和20 d时达到乙烯释放高峰。在整个贮藏期间,处理组乙烯释放量基本低于对照。其中在15 d时,处理组和对照组差异显著,3个处理组比对照分别降低了36%、34%和37%。

2.3.3 采后亚精胺处理对梨果硬度及可溶性固形物含量的影响 在整个贮藏期间,梨果的硬度随贮藏时间的延长呈逐渐下降趋势,而经不同浓度亚精胺处理的梨果硬度下降缓慢。尤其是 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚精胺处理能有效地延缓果实硬度降低,在贮藏25 d时,其硬度比对照高20%(图8-A)。

由图8-B所示,随着贮藏期的延长,梨果的可溶性固形物含量变化趋势呈现先上升后下降,对照组与处理组之间总体并没有明显差异,但在5 d时, $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚精胺处理的可溶性固形物含量明显高于

同期对照13.7%。

3 讨 论

采后亚精胺处理对梨果实黑斑病的控制存在浓度依赖性,其中 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚精胺处理显著抑制了病斑的扩展,其抑制率为55.1%,而高浓度的亚精胺处理可能对梨果造成药害。这与外源亚精胺处理有效降低了甜瓜幼苗白粉病^[17]、黄瓜幼苗灰霉病^[18]和冰糖橙植株溃疡病^[20]病情指数的结果一致。前人研究发现,用适宜浓度的亚精胺处理植株幼苗,对其病害均产生显著的抑制作用,且处理提高了SOD、CAT、POD和PPO等防御相关酶的活性。进一步研究表明,亚精胺诱导植物产生抗性的作用效果与其促进 H_2O_2 的积累、增加抗氧化物质的积累以及上调抗性相关基因的表达密切相关^[23]。

H_2O_2 在植物的抗病反应中起着非常重要的作用,高浓度 H_2O_2 的累积可延迟或阻碍病原菌的发展,低浓度 H_2O_2 可作为一个信号分子,调节各种抗氧化酶活性或引起植物的HR以提高植物的抗性^[34-36]。果实组织中NOX以NADPH为电子供体催化 O_2^- ,SOD的主要作用是将 O_2^- 转化为 H_2O_2 ,而CAT再将 H_2O_2 转化为无毒的 O_2 和 H_2O 。笔者发现,贮藏前期亚精胺处理显著提高了SOD活性,从而加速了 H_2O_2 的积累,贮藏后期处理增强CAT活性,而 H_2O_2 的积累趋于平缓。NOX酶活性变化趋势与 O_2^- 变化基本一致。总体来说,外源亚精胺处理提高了梨果实中 H_2O_2 含量和APX活性,同时也促进NOX、SOD、POD、和CAT酶活性的增加,在亚精胺处理白刺幼苗叶片^[8]、黄瓜植株^[19]以及盐胁迫下的玉米幼苗^[37]时也发现类似的结果。外源亚精胺具有改善果实抗氧化保护系统的功能,通过调控果实SOD、POD和CAT等抗氧化保护酶活性,进而调节果实 O_2^- 、 H_2O_2 的积累,增强果实的防御能力^[38]。但其具体的诱导机制还需从分子水平上进一步研究。

‘早酥梨’采后具有明显的呼吸跃变现象,在后熟过程中会出现呼吸和乙烯释放高峰。外源亚精胺采后处理降低了梨果常温贮藏期间的呼吸强度和乙烯释放量,并明显推迟了果实的呼吸强度和乙烯释放高峰。该结果与前人在‘鸭梨’^[16]上的研究结果一致。研究发现亚精胺能竞争乙烯生物合成的中间产物(SAM),降低生物体内乙烯合成代谢量^[39],亚精胺还能抑制杏ACC合成酶(ACO)和氧化酶(ACS)活性^[40],

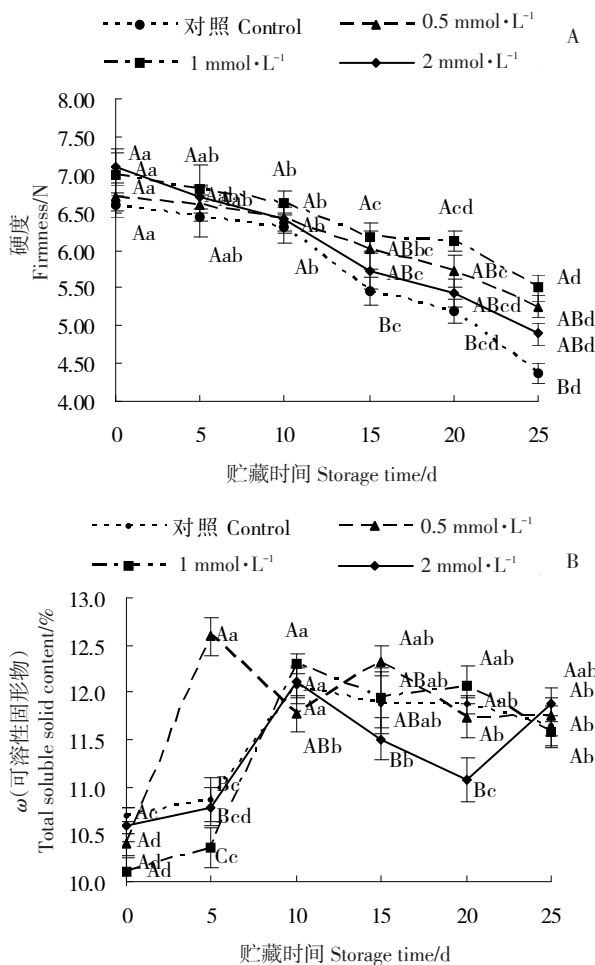


图8 外源亚精胺处理对硬度和可溶性固形物含量的影响
Fig. 8 Effect of exogenous polyamines treatment on the firmness and total soluble solid content in fruit

表明外源亚精胺可通过竞争乙烯合成的前体物质及抑制乙烯代谢关键酶活性来调节梨果的乙烯释放量,进而降低贮藏期间果实的呼吸强度。笔者还发现外源亚精胺处理能有效延缓梨果硬度的下降。该结果与前人在杏^[12]、大枣^[14]、葡萄^[15]和猕猴桃^[41]中的研究结果一致,已发现亚精胺处理能有效抑制果实多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性,从而延缓果实的软化速度^[42-43]。亚精胺还可通过自身所带正电荷结合膜的阴离子,使膜的双分子结构得到加固^[44],另外发现亚精胺可通过清除自由基,阻止膜脂过氧化^[45]。可溶性固形物含量是评价果实的一个重要感官指标,笔者发现适宜浓度的外源亚精胺可增加梨果可溶性固形物含量,这与‘鸭梨’^[16]、杏^[12]中的研究结果一致。综上所述,亚精胺在梨果采后保鲜中具有一定的应用前景,但亚精胺对果蔬采后生理及品质调控的分子机制还需进一步研究。

4 结 论

外源亚精胺有效抑制梨果实黑斑病的扩展,其中 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚精胺的效果最佳。此外,外源亚精胺处理促进活性氧的积累,提高SOD、POD、CAT、APX等抗氧化酶的活性。同时,亚精胺处理明显抑制梨果的呼吸强度和乙烯释放,推迟果实呼吸及乙烯释放高峰,有效延缓梨果的衰老速度。

参考文献 References:

- [1] 王军节,毕阳,范存斐,张婷婷,张智宏,符瑞娟,刘衍斌.采后水杨酸处理对‘早酥梨’果实色泽和质地的影响[J].现代食品科技,2010,26(10):1047-1051.
WANG Junjie, BI Yang, FAN Cunfei, ZHANG Tingting, ZHANG Zhihong, FU Ruijuan, LIU Yanbin. Effect of postharvest salicylic acid treatment on color and texture of pear fruit (*Pyrus bretschneideri* ‘Zaosu’) [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(10): 1047-1051.
- [2] 王娟,郝永菲,张鹏飞,陈计峦,刘铁玲,闫师杰.‘早酥梨’销地缓慢降温结合冰温贮藏适宜条件的研究[J].食品研究与开发,2014,35(18):96-99.
WANG Juan, HAO Yongfei, ZHANG Pengfei, CHEN Jiluan, LIU Tieling, YAN Shijie. The best storage conditions of ice-temperature technology combined with short-term slow cooling [J]. Food Research and Development, 2014, 35(18): 96-99.
- [3] 刁春英,毕阳,李永才.壳聚糖对互隔交链孢菌(*Alternaria alternata*)的离体抑制作用[J].中国农学通报,2010,26(10):91-94.
DIAO Chunying, BI Yang, LI Yongcai. The inhibition of chitosan on *Alternaria alternata* in vitro [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(10): 91-94.
- [4] YIU J C, JUANG L D, FANG D Y T, LIU C W, WU S J. Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 120(3): 306-314.
- [5] IMAI A, MATSUYAMA T, HANZAWA Y, AKIYAMA T, TAMAOKI M, SAJI H, SHIRANO Y, KATO T, HAYASHI H. Spermidine synthase genes are essential for survival of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2004, 135(3): 1565-1573.
- [6] YAMAGUCHI K, TAKAHASHI Y, BERBERICH T, IMAI A, TAKAHASHI T, JMICHAEL A, KUSANO T. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 352(2): 486-490.
- [7] 周国贤,郭世荣,王素平.外源多胺对低氧胁迫下黄瓜幼苗光合特性和膜脂过氧化的影响[J].植物学通报,2006,23(4):341-347.
ZHOU Guoxian, GUO Shirong, WANG Suping. Effects of exogenous polyamines on photosynthetic characteristics and membrane lipid peroxidation of *Cucumis sativus* seedlings under hypoxia stress [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(4): 341-347.
- [8] 萨日娜,陈贵林.外源亚精胺对盐胁迫下白刺幼苗叶片抗氧化酶系统的影响[J].西北植物学报,2013,33(2):352-356.
SA Rina, CHEN Guilin. Effect of exogenous spermidine on antioxidant enzyme system in leaves of *Nitraria sibirica* Pall. seedlings under salt stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(2): 352-356.
- [9] 汪志伟,负文俊,颀建明,李盈.外源亚精胺对盐胁迫下辣椒幼苗生长抑制的缓解效应[J].甘肃农业大学学报,2009,44(4):67-72.
WANG Zhiwei, YUN Wenjun, XIE Jianming, LI Ying. Mitigative effect of exogenous spermidine on growth inhibition in pepper seedlings under NaCl stress [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2009, 44(4): 67-72.
- [10] 魏秋平,安振锋,章文华.多胺调节拟南芥幼苗耐盐性的初步研究[J].南京农业大学学报,2008,31(3):55-59.
WEI Qiuping, AN Zhenfeng, ZHANG Wenhua. Primary study on salt tolerance regulated by polyamines in *Arabidopsis* seedlings [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2008, 31(3): 55-59.
- [11] DIAO Q N, SONG Y J, SHI D M, QI H Y. Nitric oxide induced by polyamines involves antioxidant systems against chilling stress in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedling [J]. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology), 2016, 17(12): 916-930.
- [12] 朱新卫,张辉,车凤斌,潘俨,古丽娜孜,陈乔.亚精胺处理对小白杏货架期品质的影响[J].新疆农业大学学报,2013,36(3):241-244.
ZHU Xinwei, ZHANG Hui, CHE Fengbin, PAN Yan, Gulinazi,

- CHEN Qiao. Effects of spermidine treatment on shelf-life quality of little Xiaobai apricot fruit [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2013, 36(3): 241-244.
- [13] 冯志宏, 赵迎丽, 李建华, 闫根柱, 王亮, 王春生. 亚精胺处理对大久保桃果实冷敏性的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(40): 151-155.
- FENG Zhihong, ZHAO Yingli, LI Jianhua, YAN Genzhu, WANG Liang, WANG Chunsheng. Effect of spermidine on chilling-sensitivity of 'Okubao' peach [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery, 2009, 40(40): 151-155.
- [14] 张辉, 朱新卫, 吴斌, 陈娟, 李照楠, 王静. 亚精胺处理对哈密大枣贮藏品质的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2014, 37(1): 69-72.
- ZHANG Hui, ZHU Xinwei, WU Bin, CHEN Juan, LI Zhaonan, WANG Jing. Effects of polyamines on postharvest quality of Hami jujube [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2014, 37(1): 69-72.
- [15] 周江, 张辉, 吴斌, 吴忠红, 滕姗姗. 亚精胺处理对无核白葡萄贮藏品质的影响[J]. 保鲜与加工, 2015, 15(4): 17-20.
- ZHOU Jiang, ZHANG Hui, WU Bin, WU Zhonghong, TENG Shanshan. Effects of spermidine on the quality of Thompson seedless grape during storage [J]. Storage and Process, 2015, 15(4): 17-20.
- [16] 王颖, 李里特, 丹阳, 叶青. 多胺处理对鸭梨采后生理的影响[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 141-145.
- WANG Jie, LI Lite, DAN Yang, YE Qing. Effects of polyamine on the postharvest physiology of pear [J]. Food Science, 2003, 24(7): 141-145.
- [17] 李小玲, 刘长命, 刘炼红, 杨瑞平, 郑俊骞, 莫言玲, 吴梅梅, 张显. 外源亚精胺对甜瓜幼苗白粉病抗性的影响[J]. 西北植物学报, 2015, 35(9): 1800-1807.
- LI Xiaoling, LIU Changming, LIU Lianhong, YANG Ruiping, ZHENG Junxian, MO Yanling, WU Meimei, ZHANG Xian. Study on exogenous spermidine improving resistance to powdery mildew in melon seedling [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(9): 1800-1807.
- [18] 尚庆茂, 张志刚. 亚精胺对黄瓜幼苗灰霉病的诱抗作用[J]. 应用生态学报, 2008, 19(4): 825-830.
- SHANG Qingmao, ZHANG Zhigang. Roles of spermidine in induced resistance of cucumber seedlings to *Botrytis cinerea* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(4): 825-830.
- [19] 刘俊青. 多胺诱导黄瓜霜霉病抗性机制的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2012.
- LIU Junqing. Mechanism of polyamine-induced resistance against *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2012.
- [20] 杨枫. 多胺在提高柑橘溃疡病抗性中的作用及其机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- YANG Feng. Studies on the role and mechanism of polyamines in enhancing the resistance to citrus canker disease [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014.
- [21] FONTANIELLA B, VICENTE C, ARMAS R, LEGAZ M E. Effect of leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) on polyamine and phenolic acid metabolism of two sugarcane cultivars [J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 119(4): 401-409.
- [22] 于力, 郭世荣, 阎君, 朱为民. 亚精胺诱导黄瓜幼苗对白粉病抗性的研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(7): 1384-1389.
- YU Li, GUO Shirong, YAN Jun, ZHU Weimin. Induction resistance to powdery mildew by spermidine in cucumber seedlings [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2012, 32(7): 1384-1389.
- [23] 刘长命, 杨瑞平, 莫言玲, 王永琦, 郑俊骞, 张显. 外源 Spd 预处理对甜瓜白粉病抗性及其内源多胺的诱导分析[J]. 西北植物学报, 2016, 36(1): 85-92.
- LIU Changming, YANG Ruiping, MO Yanling, WANG Yongqi, ZHENG Junxian, ZHANG Xian. Induction of endogenous polyamine contents and powdery mildew resistance by exogenous spermidine in melon seedlings [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2016, 36(1): 85-92.
- [24] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 25-27.
- FANG Zhongda. Research methods on plant diseases [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1998: 25-27.
- [25] 李永才. 碳酸盐和碳酸氢盐对鸭梨采后黑斑病和青霉病的控制研究[J]. 食品科技, 2007, 32(1): 185-188.
- LI Yongcai. Effect of carbonates and bicarbonates treatment on black spot and blue mold of postharvest Yali pear [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(1): 185-188.
- [26] 高春丽, 李永才, 毕阳, 刘筱, 杨兰, 乔文景, 王迪, 唐瑛. 采后亚硒酸钠处理对杏果黑斑病的控制及贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 258-263.
- GAO Chunli, LI Yongcai, BI Yang, LIU Xiao, YANG Lan, QIAO Wenjing, WANG Di, TANG Ying. Effects of sodium selenite treatment on black spot disease and storage quality of postharvest apricot fruit [J]. Food Science, 2016, 37(14): 258-263.
- [27] MOSCOSO-RAMIREZPA, MONTESINOS-HERREROC, PALOU L. Characterization of postharvest treatments with sodium methylparaben to control citrus green and blue molds [J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 77(2): 128-137.
- [28] ZHANG H X, BI Y, LI Y C, LIU J, GAO X H, ZHENG X Y. Effect of 1-MCP on postharvest yellowing and quality of Asia pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd. 'Early Crisp') during ambient storage [J]. Acta Horticulturae, 2010, 876(4): 243-249.
- [29] REN Y L, WANG Y F, BI Y, GE Y H, WANG Y, FAN C F, LI D Q, DENG H W. Postharvest BTH treatment induced disease resistance and enhanced reactive oxygen species metabolism in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit [J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(6): 963-971.

- [30] 王婷. 采前翠贝处理对厚皮甜瓜采后抗病性的诱导及其品质的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
WANG Ting. Effect of preharvest stroby treatments induced resistance of postharvest muskmelons and its effects on fruit quality [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016.
- [31] BAO G H, BI Y, LI Y C, KOU Z H, HU L G, GE Y H, WANG Y, WANG D. Overproduction of reactive oxygen species involved in the pathogenicity of *Fusarium* in potato tubers [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2014, 86: 35-42.
- [32] TEREFE N S, TEPPER P, ANJA U, KAI K, PABLO J B. High pressure thermal processing of pears: effect on endogenous enzyme activity and related quality attributes [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2016, 33(12): 56-66.
- [33] FAN M C, LI W X, HU X L, SUN Y N, YU G, ZHANG X. Effect of micro-vacuum storage on active oxygen metabolism, internal browning and related enzyme activities in Laiyang pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 72(5): 467-474.
- [34] MELLERSH D G, FOULDS I V, HIGGINS V J, HEATH M C. H₂O₂ plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant-fungal interactions [J]. *The Plant Journal*, 2002, 29(3): 257-268.
- [35] YODA H, HIROI Y, SANO H. Polyamine oxidase is one of the key elements for oxidative burst to induce programmed cell death in tobacco cultured cells [J]. *Plant Physiology*, 2006, 142 (1): 193-206.
- [36] GONZALEZ-AGUILARA G A, VILLA-RODRIGUEZ J A, AYALA-ZAVALA J F, YAHIA E M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a second ary response to some postharvest treatments [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2010, 21(10): 475-482.
- [37] 刘俊, 周一峰, 章文华, 刘友良. 外源多胺对盐胁迫下玉米叶绿体结合态多胺水平和光合作用的影响[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(2): 254-258.
LIU Jun, ZHOU Yifeng, ZHANG Wenhua, LIU Youliang. Effects of exogenous polyamines on chloroplast-bound polymine content and photosynthesis of corn suffering salt stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(2): 254-258.
- [38] SHARMA S, PAREEK S, SAGAR N A, VALERO D, SERRANO M. Modulatory effects of exogenously applied polyamines on post-harvest physiology, antioxidant system and shelf life of fruits: a review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18 (8): 1789.
- [39] GRZESIAK M, FILEK M, BARBASZ A, KREZMER B, HARTIKAINEN H. Relationships between polyamines, ethylene, osmoprotectants and antioxidant enzymes activities in wheat seedlings after short-term PEG- and NaCl-induced stresses[J]. *Plant Growth Regulation*, 2013, 69(2): 177-189.
- [40] 张辉, 朱新卫, 车凤斌, 潘俨, 范静文. 多胺对赛买提杏品质及乙烯代谢的影响[J]. *新疆农业科学*, 2013, 50(7): 1213-1219.
ZHANG Hui, ZHU Xinwei, CHE Fengbin, PAN Yan, FAN Jingwen. Study on the effect of polyamine on ethylene metabolism of Saimaiti apricot and its quality [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2013, 50(7): 1213-1219.
- [41] 阎瑞香, 王仁才, 李丽秀. 亚精胺处理对猕猴桃呼吸强度及 PG 活性的影响[J]. *食品科技*, 2004, 28(1): 83-85.
YAN Ruixiang, WANG Rencai, LI Lixiu. Effects of spermidine on respiration and PG activity of kiwifruit during the storage [J]. *Food Science and Technology*, 2004, 28(1): 83-85.
- [42] KOUSHESH S M, ARZANI K, BARZEGAR M. Postharvest polyamine application alleviates chilling injury and affects apricot storage ability [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(36): 8947-8953.
- [43] VALERO D, MARTINEZ-ROMERO D, SERRANO M. The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2002, 13(6): 228-234.
- [44] KUSANO T, BERBERICH T, TATEDA C, TAKAHASHI Y. Polyamines: essential factors for growth and survival [J]. *Planta*, 2008, 228(3): 367-381.
- [45] LIU J H, NADA K, HONDA C, KITASHIBA H, WEN X P, PANG X M, MORIGUCHI T. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 57 (11): 2589-2599.